



(19) **SU** (11) **1 723 125** (13) **A1**
(51) Int. Cl.

STATE COMMITTEE
FOR INVENTIONS AND DISCOVERIES

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(54) MUTAGEN

(57)

Изобретение относится к генетике, а именно к установлению мутагенной активности а, й бис-М-азиридиноалканов. Целью изобретения является увеличение мутагенной активности и повышение

- (71) Applicant:
INSTITUT KHMICHESKOJ FIZIKI
IM.N.N.SEMENOVA
- (72) Inventor: VASILEVA SVETLANA VASILEVNA,
KADORKINA GULNARA
KONSTANTINOVNA, KOSTYANOVSKIY REMIR
GRIGOREVICH, MAKHOVA ELENA
VALENTINOVNA, PAVLOVA-REZAKOVA ANNA
GRIGOREVNA

безопасности работы с мутагеном. Показано, что а, альбис-М-азиридиноалканы общей формулы $JM(CH_2)$ где n 3-8 и 12, могут быть использованы в качестве химических мутагенов.

3 табл.

SU 1723125 A1

SU 1723125 A1



(19) **SU** (11) **1 723 125** (13) **A1**
(51) МПК

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО
ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ
СССР

(21), (22) Заявка: 4767001 08.12.1989

(46) Дата публикации: 30.03.1999

(56) Ссылки: Бартошевич Ю.Э., Филиппова Л.М., Костяновский Р.Г., Генетика, 1966, №4, с. 147155. Костяновский Р.Г., Панышин О.А. Изв. АН СССР, сер. хим., 1965, № 3, с. 567-570

(98) Адрес для переписки:
11 117977 МОСКВА ГСП-1, КОСЫГИНА 4

(71) Заявитель:
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ
ИМ.Н.Н.СЕМЕНОВА

(72) ИЗОБРЕТАТЕЛЬ: ВАСИЛЬЕВА СВЕТЛАНА
ВАСИЛЬЕВНА,
КАДОРКИНА ГУЛЬНАРА
КОНСТАНТИНОВНА, КОСТЯНОВСКИЙ
РЭМИР ГРИГОРЬЕВИЧ, МАХОВА ЕЛЕНА
ВАЛЕНТИНОВНА, ПАВЛОВА-РЕЗАКОВА АННА
ГРИГОРЬЕВНА 11 117334 117321 117279 1172644 1172656 1172657
ГР 44-1311 36-4-17011 37A-12411 21-1-11611 123056 43-30

(54) Мутаген

S U 1 7 2 3 1 2 5 A 1

S U 1 7 2 3 1 2 5 A 1



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1723125 A1

(51)S C 12 N 15/01

200892

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

- (21) 4767001/13
- (22) 08.12.89
- (46) 30.03.92. Бюл. № 12
- (71) Институт химической физики им. Н.Н.Семёнова
- (72) С.В.Васильева, Г.К.Кадоркина, Р.Г.Костяновский, Е.В.Махова и А.Г.Павлова-Резакова
- (53) 575.224.4.08 (088.8)
- (56) Бартошевич Ю.Э., Филиппова Л.М., Костяновский Р.Г., Генетика, 1966, № 4, с. 147-155.

Костяновский Р.Г., Паньшин О.А. Изв.
АН СССР, сер. хим., 1965, № 3, с. 567-570.

2

- (54) МУТАГЕН
- (57) Изобретение относится к генетике, а именно к установлению мутагенной активности α, ω -бис-N-азиридиноалканов. Целью изобретения является увеличение мутагенной активности и повышение безопасности работы с мутагеном. Показано, что α, ω -бис-N-азиридиноалканы общей формулы $\text{N}(\text{CH}_2)_n\text{N}$, где $n = 3-8$ и 12, могут быть использованы в качестве химических мутагенов. 3 табл.

S U 1 7 2 3 1 2 5 A 1

Изобретение относится к генетике, а именно к экспериментальному доказательству высокой генетической (мутагенной) активности α, ω -бис-N-азиридиноалканов общей формулы $\text{N}(\text{CH}_2)_n\text{N}$, где $n = 3-8$ и 12, которые могут найти практическое применение, в частности в микробиологической и с/х селекции, а также в биотехнологии и медицине.

Известна высокая мутагенная активность азиридина (этленимины)

$\text{CH}_2=\text{NH}$

С $\text{H}_2=\text{NH}$ в отношении индукции мутаций у различных организмов, включая индукцию His^+ ревертантов у штаммов *Salmonella typhimurium* TA1535 и TA100 рKM101. При дозе мутагена 0,28 mM на чашку число индуцированных His^+ ревертантов составило 190, превысив спонтанный фон в 95 раз.— для штамма TA1535, и 290 (превышение спонтанного фона в 8 раз) — для штамма TA100 рKM101.

Недостатки в практическом использовании азиридина связаны с тем, что это соединение легколетучее (Ткип. 55) и пожароопасное, обладает кожнонарывным действием.

Целью изобретения является увеличение мутагенной активности и повышение безопасности работы с ним.

Известно применение α, ω -бис-N-азиридиноалканов в качестве компонент реактивных топлив, сшивящих реагентов для полимеров и как препараты, обладающие противоопухолевой активностью.

Предложено использование α, ω -бис-N-азиридиноалканов в качестве мутагенов в отношении бактериальной клетки *S. typhimurium* TA100 с генотипом his G46 uvrB rfa рKM 101. Этот штамм является производным штамма *S. typhimurium* TA1535 и несет миссенс мутацию his G46, ту же, что и в штамме TA1535. В качестве тест-объекта использован также TA1535.

(19) SU (11) 1723125 A1

S U 1 7 2 3 1 2 5 A 1

S U 1 7 2 3 1 2 5 A 1

Изобретение относится к генетике, а именно к экспериментальному доказательству высокой генетической (мутагенной) активности а, и -бис-азиридиноалканов общей формулы $N(CH_2)_nN$, где $n = 3-8$ и 12, которые могут найти практическое применение, в частности в микробиологической и с/х селекции, а также в биотехнологии и медицине.

Известна высокая мутагенная активность азиридина (этиленимина) $CH_2=NH$.

$CH_2=NH$ в отношении индукции мутаций у различных организмов, включая индукцию His+ ревертантов у штаммов *Salmonella typhimurium* TA1535 и TA100 pKM101. При дозе мутагена 0,28 мм на чашку число индуцированных His+ ревертантов составило 190, превысив спонтанный фон в 95 раз, для штамма TA1535, и 290 (превышение спонтанного фона в 8 раз) - для штамма TA100 pKM101.

Недостатки в практическом использовании азиридина связаны с тем, что это соединение легколетучее (ТКип. 55) и пожароопасное, обладает кожнонарывным действием.

Целью изобретения является увеличение мутагенной активности и повышение безопасности работы с ним.

Известно применение а, и-бис-М-азиридиноалканов в качестве компонент реактивных топлив, сшающих реагентов для полимеров и как препараты, обладающие противоопухолевой активностью.

Предложено использование ог, ш-бис-N-азиридиноалканов в качестве мутагенов в отношении бактериальной клетки *S. typhimurium* TA100 с генотипом his G46 uvrB га pKM 101. Этот штамм является производным штамма *S. typhimurium* TA1535 и несет миссенс мутацию his G46, ту же, что и в штамме TA 1535. В качестве тест-объекта использован также TA1535.

сл

с

XI ND OJ

Ю СЛ

Для изучения мутагенной активности указанных химических соединений использован классический тест Эймса, основанный на учете числа His ревертантов на чашке Петри в зависимости от дозы внесенного соединения.

а, со -бис-Ы-азиридиноалканы устойчивые, высококипящие жидкости с ТКип. 190- 220°C. Они были впервые получены реакцией а, и -диаминоалкана и 1,2-дигало- генэтана в среде 1,2-дихлорэтана или в бен- золе в присутствии 50% щелочи при 60-70°C.

П р и м е р 1. а, о -бис-М-азиридинобу- тан. Мутагенная активность на бактериальной клетке *Salmonella typhimurium* TA1535 0,1 мл раствора а, и-бис-М-азиридинобу- тана заданной концентрации в воде добавляют к 2 мл 0,6%-ного водного агара, содержащего 0,5% NaCl, биотин и гистидин (по 10 мл 0,5 М раствора на 80 мл такого водного агара), 0,1 мл свежей ночной культуры бактерий *S. typhimurium* TA1535 с титром 1:5 108 кл/мл и 0,5 мл фосфатного буфера Серенсена pH

7,4. Пробирку с этим верхним агаром встряхивают, перемешивая содержимое, и быстро выливают в чашку Петри на поверхность нижнего минимального агара, содержащего 2% агар с MgSO₄, глюкозой и концентратом солей. После надежного застывания верхнего слоя чашки Петри переворачивают и инкубируют в термостате при 37°C 48 ч, после чего учитывают число His ревертантов. Для учета спонтанного фона частоты спонтанных мутаций вместо раствора мутагена в пробирку с 0,6%-ным агаром вносят 0,1 мл воды.

Мутагенную активность других опытных соединений изучают в соответствии с данной методикой. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Анализ данных табл. 1 свидетельствует о том, что все изученные соединения обладают выраженным мутагенным действием, при их использовании частота индуцированных His ревертантов превышает спонтанные показатели в десятки и сотни раз. Наибольшую активность при этом проявляют азиридиноалканы с числом групп CH₂, равным 4-7.

П р и м е р 2. а, и бис-14-азиридинобу- тан. Мутагенная активность на бактериальных клетках *Salmonella typhimurium* TA100 pKM101.

Испытание мутагенной активности проводят аналогично методу, описанному в примере 1, но в качестве тест-объекта используют штамм *S. typhimurium* TA100, содержащий плазмиду pKM101.

В табл. 2 приведены результаты изучения мутагенной активности а, и -бис-М-азиридинобутина и других азиридиноалканов в отношении штамма *S. typhimurium* TA100 pKM101.

Как следует из табл. 2 и 1, зарегистрирован выдающийся мутагенный эффект соединения ряда а, и бис-Ы-азиридиноалканов с $n = 3-8$; для отдельных соединений превышение спонтанного фона достигает 250 раз. Мутагенный эффект соединения с $n = 12$ выражен слабее.

Пример 3. Сравнительная мутагенная активность 1 М растворов а, и -бис-1-азиридиноалканов на *S. typhimurium* TA100 pKM101.

Эксперименты проводят в соответствии с методом в примере 2, однако все соединения испытывают в эквимолярных дозах 0,7 М на чашку. Результаты экспериментов приведены в табл. 3. Для сравнения изучен также 0,7 М азиридин.

Из данных табл. 3 следует, что так и в предыдущих опытах, наибольшую активность проявили а, и -бис-Г-азиридиноалканы с числом $n = 4-8$, как в абсолютных значениях количества колоний-ревертантов

на чашку, так при расчете числа His ревертантов на 1 М препарата.

Меньшую активность показывают соединения с числом $n = 3$ и 12. Однако они являются мутагенами, так как в соответствии со стандартным тестом Эймса мутагенными считаются соединения, вызвавшие превышение спонтанного фона не менее чем в 2 раза.

Таким образом, а, и -бис-1-

СУ 1723125 А1

7

1723125

8

Продолжение табл. 2

Соединение	Концентрация		Число His ⁺ ревертантов на чашку	Кратное превышение спонтанного фона, раз
	мг/чашку	мМ/чашку		
▷N(CH ₂) ₁₂ N◁	0,0017 0,017 0,17	0,004 0,04 0,4	62 66 156	1,0 1,06 2,66
Спонтанный фон	0	0	62	

Таблица 3

Число His⁺ ревертантов, индуцированных α -бис-N-азиридиноалканами в *Salmonella typhimurium* TA100 рKM101 в расчете на 1 мМ.

Соединение	Число His ⁺ ревертантов на чашку (а)	Число His ⁺ ревертантов на 1 мМ (б)
▷NH	400	571
▷N(CH ₂) ₃ N◁	223	179
▷N(CH ₂) ₄ N◁	1280	1688
▷N(CH ₂) ₅ N◁	1012	1305
▷N(CH ₂) ₆ N◁	1034	1338
▷N(CH ₂) ₇ N◁	996	1283
▷N(CH ₂) ₈ N◁	362	429
▷N(CH ₂) ₁₂ N◁	245	210
Спонтанный фон	62	

а – среднее из трех независимых экспериментов
б – за вычетом спонтанного фона

5

10

СУ 1723125 А1

Редактор Н.Горват Составитель С.Васильева
Техред М.Моргентал Корректор Э.Лончакова

Заказ 1042 Тираж Подписьное
ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР.
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул.Гагарина, 101

THIS PAGE BLANK (USPTO)